

Z Zakładu Biologii Ogólnej Akademii Medycznej w Poznaniu

Kierownik: prof. dr Czesław Gerwel

i z Poradni Chorób Pasożytniczych Wojew. Przychodni Specjalistycznej w Poznaniu

Witold KASPRZAK i Zbigniew PAWŁOWSKI

**Laboratoryjne metody koprologiczne w świetle literatury
i badań własnych**

Лабораторные копрологические методы в свете литературы
и собственных исследований

The laboratory coprological methods in the light of the literature
and own experiments

Zaraz na wstępie podjętych w naszym Zakładzie badań ludności na pasożyty przewodu pokarmowego spotkaliśmy się z trudnością wyboru odpowiednich metod laboratoryjnych, albowiem literatura nasza zawiera zaledwie tylko dwie pozycje poświęcone m. in. metodyce koprologicznej. Praca Wittenberga (1925) mieści w sobie przegląd metod wówczas stosowanych, a autor nie zajmuje własnego, krytycznego stanowiska. Druga pozycja, to pierwszy i dotychczas jedyny w Polsce podręcznik W. Stefańskiego, E. Zarnowskiego i A. Sołtyśa (1952) poświęcony parazytologicznym metodom rozpoznawczym, niezmiernie cenny dla każdego zajmującego się szerzej zagadnieniem pasożytów; znajdzie tu on bowiem wszystkie, najważniejsze pomoce zarówno w pracy laboratoryjnej jak i diagnostycznej dotyczącej pasożytów człowieka i zwierząt. Ale z metod koprologicznych omówiono tu jedynie metody dekantacji i Fülleborna, jako nieskomplikowane, tanie i stosunkowo szybkie, a tym samym bardzo przydatne dla badań masowych, szczególnie w terenie.

Publikacje dotyczące masowych badań ludności na pasożyty przewodu pokarmowego (Lipiński 1928, Pochopień 1945, Kozar

1948, Janicki 1950 i inni) traktowały metody koprologiczne jedynie marginesowo i nie poddawały krytyce ich różnorodnej wartości. Jedynie Grott (1939, 1946) w badaniach nad *Lamblia intestinalis* poddał bliższej analizie metodę Rachmanowej uzupełniając ją własnymi wariantami.

Z tych więc powodów postanowiliśmy, w oparciu o dostępną nam literaturę, przeprowadzić analizy koprologiczne równolegle wieloma metodami, aby dopiero po porównaniu wyników móc wybrać 2—3 metody możliwie proste, ale dające jak najwierniejszy obraz inwazji pierwotniakami i robakami pasożytniczymi. Braliśmy również pod uwagę i to, aby metody te jak najbardziej odpowiadały przydatnością w badaniach klinicznych i mogły być stosowane w przypadkach o bardzo słabej intensywności inwazji, w których prostsze metody flotacyjne lub sedymentacyjne są nie wystarczające.

Przegląd metod koprologicznych

Znane z literatury metody badania kału na cysty i jaja pasożytów jelitowych można podzielić na trzy grupy:

1. metody bezpośrednie: a) cienkie rozmazy kału, b) grube rozmazy kału
2. metody zagęszczające: a) metody sedymentacyjne, b) metody flotacyjne
3. barwione preparaty stałe.

Cienkie rozmazy kału w sposób ogólnie przyjęty wykonujemy na szkiełkach podstawowych, rozcierając kał w kropli płynu. Ilość kału winna być tak mała, aby poprzez rozmaz przeświecał druk normalnej wielkości. Beaver (1950), celem unormowania ilości kału do rozmazu, poleca porównywanie przejrzystości preparatu z wzorcem barowym.

Różnorodne roztwory stosowane do sporządzania rozmazów przeważnie mają za zadanie podbarwić cysty pierwotniaków, względnie uwidocznić je przez zabarwienie tła. Najczęściej używane są roztwory jodu w jodku potasu np. roztwór Lugola (1 g J, 2 g KJ, 300 ml wody), względnie bardziej stężone (5 g J, 10 g KJ, 100 ml wody), lub też inne roztwory bardzo dokładnie standardyzowane (d'Antoni 1937). Ze złożonych mieszanin, w skład których wchodzi jód, Swancara (1950) poleca mieszaninę jodku potasu, dwuchromianu potasu i kwasu octowego, a Saperó (1951) — mieszaninę „MIF“ (etylortęciotiosalicylan sodu, płyn Lugola i formalina). Donaldson (1917) połączył podbarwianie pasożytów jodem z zabarwieniem tła preparatu eozyną. Niektórzy polecają samą eozynę o stężeniu 0,01 do 2,0%.

Lawless (1946) wprowadził zabarwienie tła preparatu roztworem hematoksyliny. Sposób uwidocznienia szczegółów morfologicznych trofozoitów i cyst pierwotniaków przez zmianę współczynnika załamania światła podaje Kohn (1950), traktując rozmazy roztworem fenolu. Z wielu innych roztworów, używanych do przyrządzania rozmazów, wymienić można roztwór fizjologiczny

NaCl (na trofozoity pierwotniaków) i wodę destylowaną (Håkansson, 1940), w której cysty *Dientamoeba fragilis* i *Blastocystis hominis* ulegają charakterystycznemu pękaniu.

Grube rozmazy kału polecane są dla rozpoznawania jaj robaków o grubej otoczce (*Ascaris*, *Taenia*, *Trichocephalus*). Sposoby przygotowywania tych rozmazów są różne. I tak np. Niepielski (1919) celem lepszego uwidocznienia jaj dodaje do rozmazu kroplę kwasu azotowego, Hein przejaśnia gruby rozmaz kału olejkiem cedrowym, a Kortenhaus (1928) poleca dodanie przed prześwietleniem kwasu octowego.

Metodę dekantacji, polegającą na kilkakrotnym przemywaniu kału wodą, stosowano przeważnie dla wykrywania jaj *Schistosoma* (Faust, 1924, Baroody, 1946 A). Stefański zaleca ją jako dobrą dla wykrywania u nas występujących pasożytów.

Z metod sedymentacyjnych najpowszechniej stosowana jest metoda Telemana (1908). W metodzie tej emulsję przygotowuje się z grudki kału oraz równych części stężonego kwasu solnego i eteru. Po odwirowaniu otrzymuje się, oglądając od góry, warstwę eterową z rozpuszczonymi składnikami lipoidowymi, „korek” wytworzony z resztek kałowych, warstwę kwasu octowego, oraz osad zawierający znaczną część jaj z użytej próbki kału, wśród stosunkowo nieznacznej ilości komórek roślinnych i włókien mięsnych. Metoda ta stała się podstawą dla licznych modyfikacji.

Ponieważ stężony kwas solny okazał się czynnikiem zniekształcającym jaja robaków, niektórzy badacze starali się z różnym powodzeniem zastąpić go odczynnikami bardziej odpowiednim. I tak Yaoita (wg Miyagawa, 1913) zaleca 25% antyforminę, Miyagawa (1913) stosuje 2—3 krotnie rozcieńczony kwas solny, zaś Rivas (1928) zastępuje kwas solny 5% kwasem octowym. Robin (1933) podobnie jak Leonardo (wg Skrjabina, 1946) w miejsce kwasu solnego używa odczynnika Schweitzera.

Loughlin i Stoll (1946) do analizy pobierają małą ilość (1,5 ml) dobrze rozdrobnionej wodnej zawiesiny kałowej (4 g kału i 56 ml wody) stosując 5-krotnie rozcieńczony kwas solny oraz mieszaninę eteru z ksylenem w stosunku 1:1. Trzy lata później Loughlin (1949) opisuje dalsze modyfikacje, oznaczone jako CEX i SAEX, w których kwas solny zastąpiono calgonem (sześciometasforan sodu) i aerosolem (dwuoktylosulfobursztynian sodu „NF”).

Dalsze, nowsze metody sedymentacyjne, to zapoczątkowana przez Wellera i Dammina (1945) metoda z użyciem tritonu, oraz formalinowo-eterowa metoda „MGL” (406-th Medical General Laboratory — Tokio), polecane przez Huntera (1951).

Technikę solnej flotacji jaj robaków i cyst pierwotniaków zapoczątkował Bass (1906) metodą „Gravity Flotation Technic”, stosując flotację swobodną, względnie przyspieszoną przez wirowanie. Ulepszenie tej metody podaje ten sam autor (1909) wprowadzając dokładne przemywanie materiału kałowego wodą oraz zalecając dwukrotne wirowanie w roztworze chlorku wapnia o ciężarze właściwym 1,050 i 1,250. Materiał z powierzchni roztworu pobiera za pomocą pipety lub też zlewa górną warstwę zawiesiny, którą rozgadnia i ponownie wiruje na osad. Szereg badaczy przyjęło metodę swobodnej flotacji w nasyconym roztworze chlorku sodu wprowadzając przy tym pewne mody-

1948, Janicki 1950 i inni) traktowały metody koprologiczne jedynie marginesowo i nie poddawały krytyce ich różnorodnej wartości. Jedynie Grott (1939, 1946) w badaniach nad *Lamblija intestinalis* poddał bliższej analizie metodę Rachmanowej uzupełniając ją własnymi wariantami.

Z tych więc powodów postanowiliśmy, w oparciu o dostępną nam literaturę, przeprowadzić analizy koprologiczne równoległe wieloma metodami, aby dopiero po porównaniu wyników móc wybrać 2—3 metody możliwie proste, ale dające jak najwierniejszy obraz inwazji pierwotniakami i robakami pasożytniczymi. Braliśmy również pod uwagę i to, aby metody te jak najbardziej odpowiadały przydatnością w badaniach klinicznych i mogły być stosowane w przypadkach o bardzo słabej intensywności inwazji, w których prostsze metody flotacyjne lub sedymentacyjne są nie wystarczające.

Przegląd metod koprologicznych

Znane z literatury metody badania kału na cysty i jaja pasożytów jelitowych można podzielić na trzy grupy:

1. metody bezpośrednie: a) cienkie rozmazy kału, b) grube rozmazy kału
2. metody zagęszczające: a) metody sedymentacyjne, b) metody flotacyjne
3. barwione preparaty stałe.

Cienkie rozmazy kału w sposób ogólnie przyjęty wykonujemy na szkiełkach podstawowych, rozcierając kał w kropli płynu. Ilość kału winna być tak mała, aby poprzez rozmaz przeświecał druk normalnej wielkości. Beaver (1950), celem unormowania ilości kału do rozmazu, poleca porównywanie przejrzystości preparatu z wzorcem barowym.

Różnorodne roztwory stosowane do sporządzania rozmazów przeważnie mają za zadanie podbarwić cysty pierwotniaków, względnie uwidocznić je przez zabarwienie tła. Najczęściej używane są roztwory jodu w jodku potasu np. roztwór Lugola (1 g J, 2 g KJ, 300 ml wody), względnie bardziej stężone (5 g J, 10 g KJ, 100 ml wody), lub też inne roztwory bardzo dokładnie standaryzowane (d'Antoni 1937). Ze złożonych mieszanin, w skład których wchodzi jód, Swancara (1950) poleca mieszaninę jodku potasu, dwuchromianu potasu i kwasu octowego, a Saperó (1951) — mieszaninę „MIF” (etylortetiothiosalicylan sodu, płyn Lugola i formalina). Donaldson (1917) połączył podbarwianie pasożytów jodem z zabarwieniem tła preparatu eozyną. Niektórzy polecają samą eozynę o stężeniu 0,01 do 2,0%.

Lawless (1946) wprowadził zabarwienie tła preparatu roztworem hematoksyliny. Sposób uwidocznienia szczegółów morfologicznych trofozoitów i cyst pierwotniaków przez zmianę współczynnika załamania światła podaje Kohn (1950), traktując rozmazy roztworem fenolu. Z wielu innych roztworów, używanych do przyrządzania rozmazów, wymienić można roztwór fizjologiczny

NaCl (na trofozoity pierwotniaków) i wodę destylowaną (Håkansson, 1940), w której cysty *Dientamoeba fragilis* i *Blastocystis hominis* ulegają charakterystycznemu pękaniu.

Grube rozmazy kału polecane są dla rozpoznawania jaj robaków o grubej otoczce (*Ascaris*, *Taenia*, *Trichocephalus*). Sposoby przygotowywania tych rozmazów są różne. I tak np. Niepielski (1919) celem lepszego uwidocznienia jaj dodaje do rozmazu kroplę kwasu azotowego, Hein przejaśnia gruby rozmaz kału olejkiem cedrowym, a Kortenhaus (1928) poleca dodanie przed prześwietleniem kwasu octowego.

Metodę dekantacji, polegającą na kilkakrotnym przemywaniu kału wodą, stosowano przeważnie dla wykrywania jaj *Schistosoma* (Faust, 1924, Baroody, 1946 A). Stefański zaleca ją jako dobrą dla wykrywania u nas występujących pasożytów.

Z metod sedymentacyjnych najpowszechniej stosowana jest metoda Telemana (1908). W metodzie tej emulsję przygotowuje się z grudki kału oraz równych części stężonego kwasu solnego i eteru. Po odwirowaniu otrzymuje się, oglądając od góry, warstwę eterową z rozpuszczonymi składnikami lipidowymi, „korek” wytworzony z resztek kałowych, warstwę kwasu octowego, oraz osad zawierający znaczną część jaj z użytej próbki kału, wśród stosunkowo nieznacznej ilości komórek roślinnych i włókien mięsnych. Metoda ta stała się podstawą dla licznych modyfikacji.

Ponieważ stężony kwas solny okazał się czynnikiem zniekształcającym jaja robaków, niektórzy badacze starali się z różnym powodzeniem zastąpić go odczynnikami bardziej odpowiednim. I tak Yaoita (wg Miyagawa, 1913) zaleca 25% antyforminę, Miyagawa (1913) stosuje 2—3 krotnie rozcieńczony kwas solny, zaś Rivas (1928) zastępuje kwas solny 5% kwasem octowym. Robin (1933) podobnie jak Leonardo (wg Skrjabina, 1946) w miejsce kwasu solnego używa odczynnika Schweitzera.

Loughlin i Stoll (1946) do analizy pobierają małą ilość (1,5 ml) dobrze rozdrobnionej wodnej zawiesiny kałowej (4 g kału i 56 ml wody) stosując 5-krotnie rozcieńczony kwas solny oraz mieszaninę eteru z ksylenem w stosunku 1:1. Trzy lata później Loughlin (1949) opisuje dalsze modyfikacje, oznaczone jako CEX i SAEX, w których kwas solny zastąpiono calgonem (sześciometasforan sodu) i aerosolem (dwuoktylosulfobursztynian sodu „NF”).

Dalsze, nowsze metody sedymentacyjne, to zapoczątkowana przez Wellera i Dammina (1945) metoda z użyciem tritonu, oraz formalinowo-eterowa metoda „MGL” (406-th Medical General Laboratory — Tokio), polecane przez Huntera (1951).

Technikę solnej flotacji jaj robaków i cyst pierwotniaków zapoczątkował Bass (1906) metodą „Gravity Flotation Technic”, stosując flotację swobodną, względnie przyspieszoną przez wirowanie. Ulepszenie tej metody podaje ten sam autor (1909) wprowadzając dokładne przemywanie materiału kałowego wodą oraz zalecając dwukrotne wirowanie w roztworze chlorku wapnia o ciężarze właściwym 1,050 i 1,250. Materiał z powierzchni roztworu pobiera za pomocą pipety lub też zlewa górną warstwę zawiesiny, którą rozgadnia i ponownie wiruje na osad. Szereg badaczy przyjęło metodę swobodnej flotacji w nasyconym roztworze chlorku sodu wprowadzając przy tym pewne mody-

fikacje. I tak Darling (1911) stosuje roztwór soli kuchennej z dodatkiem glicerolu, a materiał z powierzchni pobiera przy pomocy waty lub agaru. Skrzabin (1946) poleca metodę Gorkinoj, polegającą na połączeniu metod Telemanna i Darlinga, jako szczególnie dobrą dla badań klinicznych. Kofoid i Barber (1918) używają do analiz większych ilości kału zastosowując 200 ml naczyńna parafinowane, a wypływające jaja pobierają pętlą drucianą. Fülleborn (1920) używa mniejszej ilości kału (1:2 NaCl). Willis (1921) materiał pobiera bezpośrednio szkiełkami podstawowymi nakładanymi na cylinderki wypełnione po brzegi zawiesiną. Kału nie przemywa i emulsji nie sączy. Lane (1922) powraca do tej techniki Bassa, w której flotację jaj przyspiesza się wirowaniem. Opisuje on specjalny aparacik pozwalający na utrzymanie się podczas wirowania szkiełka nakrywkowego na powierzchni badanej próby. Modyfikację tej metody podaje Parietskaja (1940). Hung i Fülleborn (modyfikacja hamburska — 1926, 1927) ulepszą swobodną flotację przez zastosowanie specjalnych, metalowych naczyń z wgłębieniem na określoną ilość kału, a materiał do badań pobierają na szkiełka nakrywkowe narzucane na powierzchnię roztworu. Najera (1950) stosuje swobodną flotację w stożkowatych rurkach, których otwory w czasie przygotowania zawiesiny zamyka korkami, po czym na górny mniejszy otwór nakłada szkiełko nakrywkowe.

Metoda Fausta (1938, 1939) z roztworem siarczanu cynku o c. wł. 1,180 była również punktem wyjścia dla niemniej licznych modyfikacji. Jak podaje sam autor, metoda ta opiera się na metodzie Khaustowa (1935), który posługiwał się roztworem siarczanu miedzi o c. wł. 1,200. Faust przemywa kał kilkakrotnie wodą, następnie wiruje z roztworem siarczanu cynku, a uformowaną na powierzchni błonkę zdejmuje pętlą, względnie szkiełkiem nakrywkowym, które nakłada na powierzchnię próbówki jeszcze przed wirowaniem albo po wirowaniu. Otto (1941) stosuje roztwór siarczanu cynku o c. wł. 1,180 w prostszej technice Willisa. Summers (1942) używa roztworu siarczanu cynku o większym ciężarze właściwym = 1,200. Baroody (1946 B) poleca przepłukiwanie kału ciepłą wodą, a Bonilla-Naar (1948) i Bijlmer (1948) pomijają w ogóle przepłukiwanie i sączenie, a kał rozcierają bezpośrednio w roztworze siarczanu cynku.

Wielu badaczy wprowadza do metody Fausta różne sposoby pobierania materiału z błonki powierzchniowej. I tak Frank (1945) zaleca alkoholowoceterowy roztwór kolodium, Watson (1947) — białko (wg Mayera), a Hellmeister (1952), podobnie jak Bass, zlewa górną warstwę zawiesiny i wiruje ją z wodą na osad.

Garcia (1940) zastosował roztwór azotanu miedzi o c. wł. 1,180, otrzymując w ten sposób pewien kontrast między niezabarwionymi cystami pierwotniaków i jajami robaków, a zabarwionym tłem. Islas (1952) proponuje zamiast siarczanu cynku — siarczan sodu.

Odczynnikiem często używanym we flotacyjnych metodach koprologicznych jest roztwór cukru. Caldwell (1926) stosuje go z antyforminą, a Rebrasier (1932) i Shearer (wg Kolmera 1945) do wodnej zawiesiny kału dodają 57% roztworu cukru w stosunku 1:1. Rachmanowa (1936) do określania ciężaru właściwego cyst *Lambliia intestinalis* wprowadza roztwory cukru o różnych stężeniach, przy czym okazało się, że optymalne zagęszczenie

tych cyst otrzymuje się w 30% roztworze o c. wł. 1,113. Grott (1939 B, 1946) 30% roztwór cukru zastępuje trwalszą i praktyczniejszą mieszaniną soli nieorganicznych.

Wielu badaczy poleca stosowanie w metodach flotacyjnych formaliny w mieszaninie z innymi roztworami, np. Günzburg (1912) — chlorku amonu i formaliny, Charles-Bartholemy (1917) — kwasu cytrynowego i formaliny, Lepes (1952) — glicerolu i formaliny.

Do odrębnej grupy metod flotacyjnych można by zaliczyć te, które stosują roztwory o ciężarze właściwym większym od c. wł. nasyconego roztworu chlorku sodu = 1,200. Metody te okazują się dobre dla wykrywania cięższych jaj, np. *Diphyllobothrium latum*, *Fasciola hepatica* i in. Należą tu m. in. roztwory azotanu sodu o c. wł. 1400 (Kalantarjan, 1938), węglanu potasu o c. wł. 1450 (Vajda, 1940), siarczanu magnezu o c. wł. 1285 (Koutz, 1941) i cały szereg innych.

Z licznych sposobów barwienia preparatów stałych powszechnie zalecane jest barwienie hematoksyliną żelazistą wg Heidenheina, po uprzednim utrwaleniu preparatu roztworem Schaudina. Jest to jednak metoda trudna, wymagająca dużej wprawy i większej ilości czasu. Markey, Culbertson i Giordiano (1943 — wg Kolmera) polecają oszczędny, 0,1% roztwór hematoksyliny, oraz podają szybki sposób barwienia, a Goldman (1949) upraszcza postępowanie przez zastosowanie mieszaniny alunu i hematoksyliny.

Należy tu wspomnieć, że dobrze sporządzony z materiału zagęszczonego metodą koncentracijną mokry preparat jodowy może w zupełności zastąpić w różniczkowaniu pierwotniaków stały preparat barwiony (Rotbard 1951, Reichenow 1952).

Na uwagę zasługuje również badanie błonki powierzchniowej we flotacji solnej przy oświetleniu bocznym bezpośrednio pod mikroskopem (Błażin wg Skrzabina 1946). Zastosowanie mikroskopu z fluorescencją (Rankl, 1947) i mikroskopu fazowego (Buttiaux, 1950) dla badań koprologicznych nie ma większego znaczenia.

Przedstawiony krótko przegląd metod koprologicznych wyczerpuje zagadnienie w sposób bardzo skromny. Istnieje bowiem cały szereg modyfikacji czy wariantów dla specjalnych prac badawczych, względnie dostosowanych dla wykrywania ściśle określonych pasożytów. W przeglądzie naszym podaliśmy przede wszystkim metody i modyfikacje najbardziej znane i najczęściej stosowane. Jednak już z tego co powiedzieliśmy wynika, że wybór metod nadających się przede wszystkim do badań klinicznych jest rzeczywiście trudny.

Badania własne

Na podstawie wstępnych badań i danych z literatury wybraliśmy dla naszych celów 7 metod rozpoznawczych niżej przedstawionych.

Do barwienia rozmazów, w oparciu o prace Priedtieczieskiego, Gradwohl-Kouriego i Stitta, używaliśmy stężonego roztworu jodu, oraz hematoksyliny wg Lawlessa.

Ta ostatnia, w przeciwieństwie do roztworu jodu, nie podbarwia cyst pierwotniaków, a zabarwia jedynie tło preparatu, co pozwala na łatwiejsze odnalezienie pasożytów. W ten sposób obie te metody barwienia wzajemnie uzupełniają się.

Z metod sedymentacyjnych wybraliśmy octowo-eterową metodę Rivas'a. Kierowaliśmy się bowiem opinią wielu badaczy, którzy, z uwagi na destrukcyjne oddziaływanie kwasu solnego na jaja pasożytów oraz w trosce o sprzęt optyczny, wrażliwy na pary stężonych kwasów, unikali metody Telemanna. Loughlin (1949) podaje, że nawet 5-krotnie rozcieńczony kwas solny (metoda AEX) nie jest pozbawiony szkodliwego oddziaływania zarówno na otoczkę jaj, jak i na obiektyw mikroskopu. Według tegoż autora lepsze wyniki otrzymywane w metodzie Rivas'a polegają między innymi prawdopodobnie i na tym, że niższy ciężar właściwy kwasu octowego wpływa bardziej hamująco na współtowarzyszące zjawiska flotacji, dzięki czemu osad wzbogaca się w jaja pasożytów.

Z metod flotacyjnych na jaja robaków i cysty pierwotniaków zastosowaliśmy cztery: Rachmanowej z 30% roztworem cukru, Fausta z 33,1% roztworem siarczanu cynku, oraz Bass-Fülleborna i Willisa z nasyconym roztworem chlorku sodu.

Do oryginalnej techniki Fausta wprowadziliśmy pewne uproszczenia, mianowicie, kał przemywaliśmy tylko jeden raz i pominęliśmy sączenie zawiesiny.

Na wstępie naszych badań nad metodami flotacyjnymi bez wirowania (Bass-Fülleborn i Willis) przekonaliśmy się, że swobodne wypływanie jaj *Trichocephalus* zachodzi bardzo powoli i po 1 godzinie zaledwie tylko część ich dochodzi do powierzchni zawiesiny. Czas 1 godziny flotacji jest ogólnie uznany za ostateczny do pobierania materiału, gdyż tylko tak długo jaja niektórych pasożytów utrzymują się na powierzchni. Aby więc uzyskać prawdziwy obraz inwazji postanowiliśmy zastosować metodę flotacyjną z wirowaniem. Chcąc jednak chociaż częściowo porównać wydajność flotacji przyspieszonej wirowaniem z flotacją swobodną wykonaliśmy równolegle część analiz prostą metodą Willisa.

Aby ocenić bliżej metodę flotacyjną połączoną z wirowaniem zainteresowaliśmy się kwestią rozmieszczenia w próbce jaj *Trichocephalus* po 3-minutowym wirowaniu, przy 3000 obr./min. Okazało się, że tylko niewielka ich część znajdowała się na powierzchni, więcej natomiast jaj zalegało pod formującą się błonką w górnych warstwach roztworu. Nieliczne jaja znajdowaliśmy również w osadzie.

W związku z tym przyjęliśmy technikę podaną przez Bassa (1909) polegającą na zlewaniu górnej części zawiesiny do wody i ponownym wirowaniu.

Do metody Bass-Fülleborna używaliśmy osadu, jaki pozostał po Rachmanowej (odpowiednik pierwszej flotacji z chlorem wapnia o c. wł. 1,050 u Bassa) wykorzystując w ten sposób już w znacznej mierze oczyszczony materiał.

*

*

*

Badania nasze przeprowadziliśmy w 2 etapach: w pierwszym (styczeń—maj 1953) przebadano 500 próbek kału przy użyciu 3 metod: Rivas, Rachmanowa, Bas-Fülleborn, w drugim (czerwiec—lipiec 1953) przebadano dalszych 500 próbek kału przy użyciu 6 metod: Rivas, Rachmanowa, Bass-Fülleborn, Faust, bezpośredni rozmaz barwiony hematoksyliną wg Lawlessa i bezpośredni rozmaz barwiony jodem. Pod koniec drugiego etapu pracy na tym samym materiale wykonano dodatkowo 230 analiz metodą Willisa.

Do badań pobierano dokładnie uprzednio wymieszany kał w ilości 0,4—0,7 g. Posługiwano się mikroskopem Rathenow ROW (okular 12x, obiektyw 6x — dla jaj robaków i 24x i ew. 100x imers. dla cyst pierwotniaków), używając filtrów matowego i ew. niebieskiego. Do preparatów mikroskopowych używano szkiełek nakrywkowych o wymiarach 18×18 mm. Z każdej analizy sporządzano 1 preparat. Materiał przeglądano pod całym szkiełkiem nakrywkowym notując dokładnie ilość znalezionych jaj pasożytów w całym preparacie oraz

TABELA I
Grupy ilościowego występowania cyst i jaj

Grupa	c y s t y	j a j a
I	mniej niż 1 w czterech polach widzenia	poniżej 4 pod całym szkiełkiem nakrywkowym
II	od 1 w czterech polach widzenia do 1 w jednym polu widzenia	od 4 do 10 pod całym szkiełkiem nakrywkowym
III	więcej niż 1 w polu widzenia	powyżej 10 pod całym szkiełkiem nakrywkowym

przeciętną ilość cyst w polu widzenia (1 szkiełko nakrywkowe mieściło w sobie około 400 pól widzenia).

W celu zdobycia konkretnych danych oceniających czułość danej metody koprologicznej przyjęliśmy oznaczać ilość znajdujących cyst względnie jaj grupami I, II i III według powyżej zamieszczonej tabeli I. Powyższy podział — zupełnie dowolny — ilustruje granice możliwości przeoczenia pasożytów w czasie mikroskopowania; w grupie I możliwość ta jest duża, w grupie II nie powinna mieć miejsca, a w grupie III jest nieomal wykluczone.

W pierwszym etapie pracy przebadano 500 próbek kału dzieci i dorosłych przeważnie z terenu miasta Poznania. Kał, na ogół sfornowany, przechowywano w chłodni najdłużej do 3 tygodni w temperaturze około $+4^{\circ}\text{C}$. Próbek kału dodatnich było ogółem 142, a ilość zarażeń różnymi gatunkami pasożytów — 165.

Wykryto:

<i>Trichocephalus trichiurus</i>	w 52 przypadkach
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3 „
<i>Enterobius vermicularis</i>	9 „
<i>Taenia saginata</i> *	3 „
<i>Taenia solium</i> *	1 „
<i>Entamoeba coli</i>	56 „
<i>Entamoeba histolytica</i> **	9 „
<i>Lambliia intestinalis</i>	25 „
Inne pierwotniaki (<i>Jodamoeba</i> <i>bütschlii</i> , <i>Chilomastix mesnili</i>)	7 „

Badano następującymi metodami:

Metoda Rivas'a. Kał wielkości grochu rozcierano dokładnie przy pomocy bagietki na ściankach próbówki. Po dolaniu 5 ml 5% kwasu octowego kał rozcierano ponownie i sączono przez druciane sitko do próbówki. Następnie dolewano 5 ml eteru i po zamknięciu otworu próbówki korkiem gumowym dokładnie wstrząsano, aż do uzyskania jednorodnej zawiesiny. Następnie wirowano przez 3 minuty przy 300 obr./min. Korek, jaki wytworzył się w próbówce, ostrożnie wylewano wraz z płynem. Jeżeli ściany próbówki były zabrudzone resztkami korka, to usuwano je natychmiast przy pomocy wacika, aby uniknąć wtórnego zanieczyszczenia osadu. Z dna próbówki pobierano dwie krople osadu i badano pod mikroskopem. W wypadku wykrycia cyst, po przejrzaniu całego preparatu, dodawano kroplę roztworu jodu.

* Gatunek pasożyta oznaczono na podstawie cech członu przejrzalego.

** Oznaczono na podstawie preparatów jodowych i hematoksylinowych. Hodowli na pożywkach nie prowadzono.

TABELA II

Zestawienie ilości zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami
w I części pracy

		Rivas	Rach- manowa	Bass- Füll.	Istotna ilość zarażeń
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	Grupa I	18	1	15	52
	II	15	—	18	
	III	12	—	14	
	Ogółem	45	1	47	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	I	1	—	—	3
	II	1	—	2	
	III	—	—	1	
	Ogółem	2	—	3	
<i>Enterobius vermicularis</i>	I	1	2	2	9
	II	—	—	3	
	III	1	2	—	
	Ogółem	2	4	5	
<i>Taenia saginata</i>	I	1	—	—	3
	II	—	—	—	
	III	2	—	3	
	Ogółem	3	—	3	
<i>Taenia solium</i>	I	—	—	—	1
	II	—	—	—	
	III	1	—	1	
	Ogółem	1	—	1	
<i>Entamoeba coli</i>	I	13	35	1	56
	II	18	11	—	
	III	13	6	—	
	Ogółem	44	52	1	
<i>Entamoeba histolytica</i>	I	2	4	—	9
	II	3	3	—	
	III	1	—	—	
	Ogółem	6	7	—	
<i>Lambliia intestinalis</i>	I	3	3	—	25
	II	3	6	—	
	III	16	12	—	
	Ogółem	22	21	—	
<i>Protozoa varia</i>	I	—	5	—	7
	II	—	2	—	
	III	2	—	—	
	Ogółem	2	7	—	

Metoda Rachmanowej. Podobnie jak w metodzie poprzedniej kał wielkości grochu pobierano bagietką i rozcierano na ściankach probówki. Po dodaniu 8 ml 30% roztworu cukru o c. wł. 1,113 i po ponownym roztarciu, dobrze rozdrobnioną zawiesinę wirowano przez 2 min. przy 2000 obr./min. 2 ml odwirowanego płynu zlewano do 8 ml wody destylowanej i po lekkim wstrząśnięciu wirowano przez dalsze 3 min. przy 3000 obr./min. Płyn zlewano, a 2 krople osadu przenoszono na szkiełko podstawowe do małej kropli stężonego roztworu jodu, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i badano pod mikroskopem.

Metoda Bass-Fülleborna. Używano tu materiału w postaci osadu, jaki pozostał po pierwszym wirowaniu w metodzie Rachmanowej. Osad rozcierano bagietką, dolewano 4 ml 37,5% roztworu NaCl o c. wł. 1,200 i wirowano przez 2 min. przy 2000 obr./min. 2 ml odwirowanego płynu zlewano do 6 ml wody destylowanej, wstrząsano i wirowano przez dalsze 3 min.

TABELA III

Zestawienie ilości zarażeń wykrytych tylko jedną z wymienionych metod w I części pracy

	Rivas	Rachmanowa	Bass-Füll.	Ogółem
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	5	—	7	12
<i>Ascaris lumbricoides</i>	—	—	1	1
<i>Enterobius vermicularis</i>	1	2	3	6
<i>Entamoeba coli</i>	3	12	1	16
<i>Entamoeba histolytica</i>	2	3	—	5
<i>Lambliia intestinalis</i>	4	2	—	6
<i>Protozoa varia</i>	—	5	—	5

przy 3000 obr./min. Płyn zlewano, a 2 krople osadu przenoszono na szkiełko podstawowe, przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i badano pod mikroskopem.

Wyniki uzyskane tymi trzema metodami są przedstawione na tabelach II i III oraz na wykresie 1.

W drugim etapie pracy przebadano 500 próbek kału dzieci i dorosłych przeważnie spośród ludności wiejskiej. Kał był na ogół luźno uformowany, z obfitymi resztkami roślinnymi. Przechowywano go również w chłodni do trzech tygodni w temperaturze około +4° C.

Próbek dodatnich było ogółem 318 a ilość zarażeń poszczególnymi gatunkami pasożytów — 511.

Wykryto:

<i>Trichocephalus trichiurus</i>	w 249 przypadkach
<i>Ascaris lumbricoides</i>	42 „
<i>Enterobius vermicularis</i>	38 „
<i>Rhabditis</i> sp.	3 „
<i>Taenia saginata</i>	6 „
<i>Hymenolepis nana</i>	1 „
<i>Entamoeba coli</i>	132 „
<i>Entamoeba histolytica</i>	6 „
<i>Lambliia intestinalis</i>	30 „
Inne pierwotniaki (<i>Jodamoeba</i> <i>bütschlii</i> , <i>Chilomastix mesnili</i>)	4 ..

Kał badano następującymi metodami:

Metoda Rivas'a. Podobnie jak w pierwszym etapie, jednakże z pominięciem sączenia przez sitko.

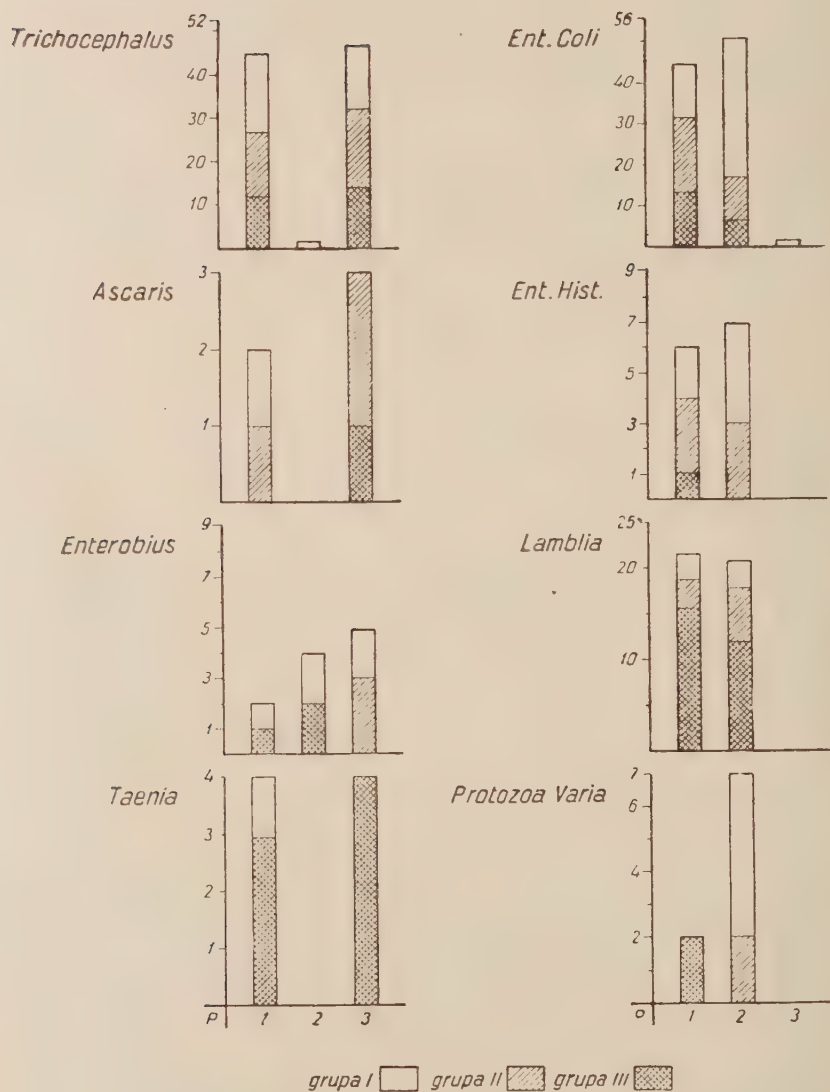
Metoda Rachmanowej i metoda Bass-Fülleborna — jak w pierwszym etapie.

Metoda Fausta. Kał wielkości grochu rozcierano bagietką na ściankach próbówki do wirowania. Po dolaniu 8 ml wody destylowanej kał rozcierano ponownie aż do otrzymania drobnej zawiesiny. Po odwirowaniu (1 min. przy 2500 obr./min.) płyn zlewano, a po roztarciu osadu bagietką dolewano 33,1% roztworu siarczanu cynku o c. wł. 1,180 do wysokości 0,5 cm od górnego brzegu próbówki, po czym zawieszinę wirowano przez 1 min. przy 2500 obr./min. Z kolei próbówki przenoszono ostrożnie do statywu, uzupełniano roztworem siarczanu cynku ponad brzeg a po 5 min. pobierano przez dotknięcie szkiełkiem nakrywkowym błonkę z powierzchni płynu i umieszczano na szkiełku podstawowym w małej kropli stężonego roztworu jodu.

Rozmaz bezpośredni barwiony hematoksyliną wg Lawlessa. Na szkiełku podstawowym umieszczano kroplę roztworu hematoksyliny wg Lawlessa (15 ml 0,5% roztworu hematoksyliny, 25 ml 4% roztworu alunu żelazowo-amonowego, 75 ml roztworu fizjologicznego NaCl), w której rozcierano przy pomocy wykałaczki kał w ilości ziarna prosa. Po usunięciu grubszych resztek pokarmowych dodawano dalsze 1—2 kropli roztworu hematoksyliny. Po 5 min. preparat przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i badano pod mikroskopem. Przyrządzane rozmazy były na tyle przezroczyste, że wyraźnie przeświecał przez nie druk normalnej wielkości.

Rozmaz bezpośredni barwiony jodem przygotowywany podobnie jak poprzedni z tym, że w miejsce roztworu hematoksyliny używaliśmy stężonego roztworu jodu w roztworu potasu.

Metoda Willisa. Kał wielkości grochu rozcierano na ściankach szklanych cylindereków o średnicy 18 mm i wysokości 50 mm, dolewano do $\frac{2}{3}$ naczynia



Wykres 1. Ilość zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami w I części pracy. P. — istotna ilość zarażeń, 1 — metoda Rivasa, 2 — metoda Rachmanowej, 3 — metoda Bass-Fülleborna.

TABELA IV
Zestawienie ilości zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami
w II części pracy

		Rivas	Rach- manowa	Bass- Füll.	Faust	Rozmaz hemat.	Rozmaz jodowy	Rozmaz łącznie	Istotna ilość zarażeń
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	Grupa I	47	5	51	79	72	65		
	II	68	—	50	46	23	23		
	III	105	—	97	16	5	3		
	Ogółem	220	5	198	141	100	91	132	249
<i>Ascaris lumbricoides</i>	I	10	—	4	2	8	6		
	II	4	6	5	3	17	11		
	III	7	7	19	16	10	15		
	Ogółem	21	13	28	21	35	32	36	42
<i>Enterobius vermicularis</i>	I	—	2	2	15	3	3		
	II	—	1	—	6	—	—		
	III	—	—	1	14	1	—		
	Ogółem	—	3	3	35	4	3	5	38
<i>Rhabditis</i> sp.	I	—	—	—	1	—	1		
	II	1	1	1	—	1	1		
	III	—	1	—	2	1	1		
	Ogółem	1	2	1	3	2	3	3	3
<i>Taenia saginata</i>	I	4	—	3	1	—	—		
	II	—	—	2	3	2	2		
	III	—	—	1	1	4	4		
	Ogółem	4	—	6	5	6	6	6	6
<i>Hymenolepis nana</i>	I	—	—	—	—	—	—		
	II	—	—	—	—	—	—		
	III	—	—	—	1	—	—		
	Ogółem	—	—	—	1	—	—	—	1
<i>Entamoeba coli</i>	I	32	46	—	27	58	48		
	II	26	23	—	43	19	11		
	III	31	12	—	42	6	3		
	Ogółem	89	81	—	112	83	62	92	132
<i>Entamoeba histolytica</i>	I	—	2	—	1	2	1		
	II	—	2	—	2	—	—		
	III	1	—	—	2	—	—		
	Ogółem	1	4	—	5	2	1	2	6
<i>Lamblia intestinalis</i>	I	—	8	—	2	4	8		
	II	2	3	—	—	8	5		
	III	18	9	—	22	12	9		
	Ogółem	20	20	—	24	24	22	25	30
<i>Protozoa varia</i>	I	—	2	—	—	1	—		
	II	—	—	—	—	—	—		
	III	—	1	—	1	—	—		
	Ogółem	—	3	—	1	1	—	1	4

nasyconego roztworem NaCl o c. wł. 1,200 i rozcierano ponownie aż do otrzymania zawiesiny. Z kolei naczynie dopełniano po brzegi roztworem chlorku sodu, a po 1 minucie na powierzchnię płynu nakładano szkiełko podstawowe, które przykrywało szczelnie otwór naczynia. Po 30—45 minutach szybkim ruchem szkiełko zdejmowano i odwracano i po przykryciu szkiełkiem nakrywkowym badano pod mikroskopem.

Wyniki uzyskane tymi 7 metodami zebrane są na tablicach IV, V, VI oraz na wykresach 2 i 3.

TABELA V

Zestawienie ilości zarażeń wykrytych tylko jedną z podanych metod w II części pracy

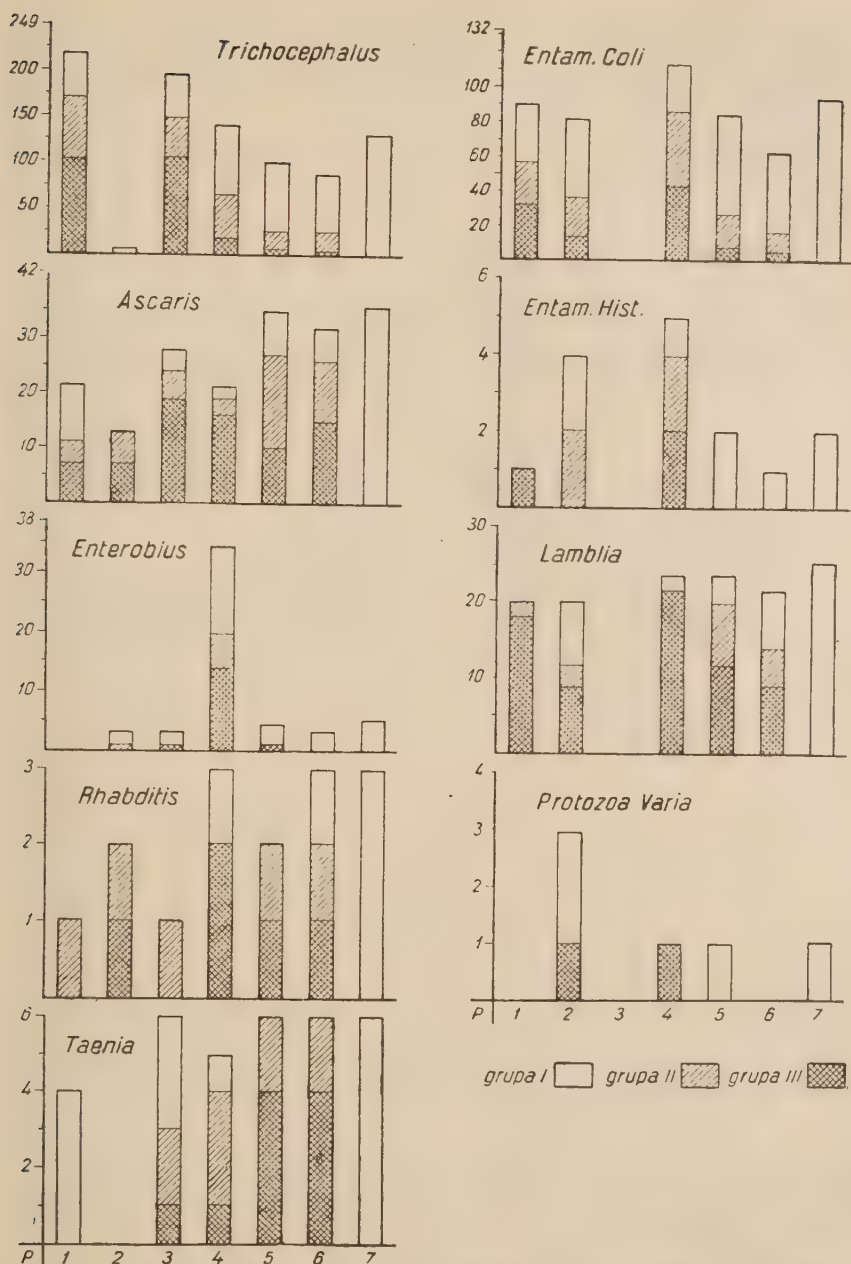
	Rivas	Rachmanowa	Bass-Füll.	Faust	Rozmazy łącznie	Ogółem
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	19	—	11	5	—	35
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1	—	2	—	8	11
<i>Enterobius vermicularis</i>	—	1	2	26	—	29
<i>Hymenolepis nana</i>	—	—	—	1	—	1
<i>Entamoeba coli</i>	4	3	—	15	3	25
<i>Entamoeba histolytica</i>	—	1	—	1	—	2
<i>Lamblia intestinalis</i>	—	—	—	3	1	4
<i>Protozoa varia</i>	—	2	—	1	—	3

Omówimy teraz pokrótce przydatność poszczególnych metod koprologicznych w wykrywaniu występujących u nas pasożytów.

Nicienie

Trichocephalus trichiurus. Jaja w największej ilości przypadków oraz w największym zagęszczeniu stwierdzane były metodami Rivas (88%) i Bass-Fülleborna (80%).

Ascaris lumbricoides najlepiej wykrywały rozmazy bezpośrednie z hematoksyliną wg Lawlessa ($\frac{5}{6}$ ogółu przypadków) i z jodem (około $\frac{5}{7}$ ogółu przypadków), natomiast metoda Bass-Fülleborna dała zaledwie $\frac{2}{3}$ ogółu przypadków. Największe zagęszcze-



Wykres 2. Ilość zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami w II części pracy. P. — istotna ilość zarażeń, 1 — metoda Rivas. 2 — metoda Rachmanowej, 3 — metoda Bass-Fülleborna, 4 — metoda Fausta, 5 — rozmaz barwiony jodem, 7 — rozmazy bezpośrednie łącznie.

nie jaj zapłodnionych otrzymaliśmy przy metodach Fausta i Bass-Fülleborna, a jaja niezapłodnione wykazywały przede wszystkim rozmazy i metoda Riva'sa.

Enterobius vermicularis. Największą ilość przypadków wykazano bezspornie metodą Fausta.

TABELA VI

Zestawienie ilości zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami łącznie z metodą Willisa

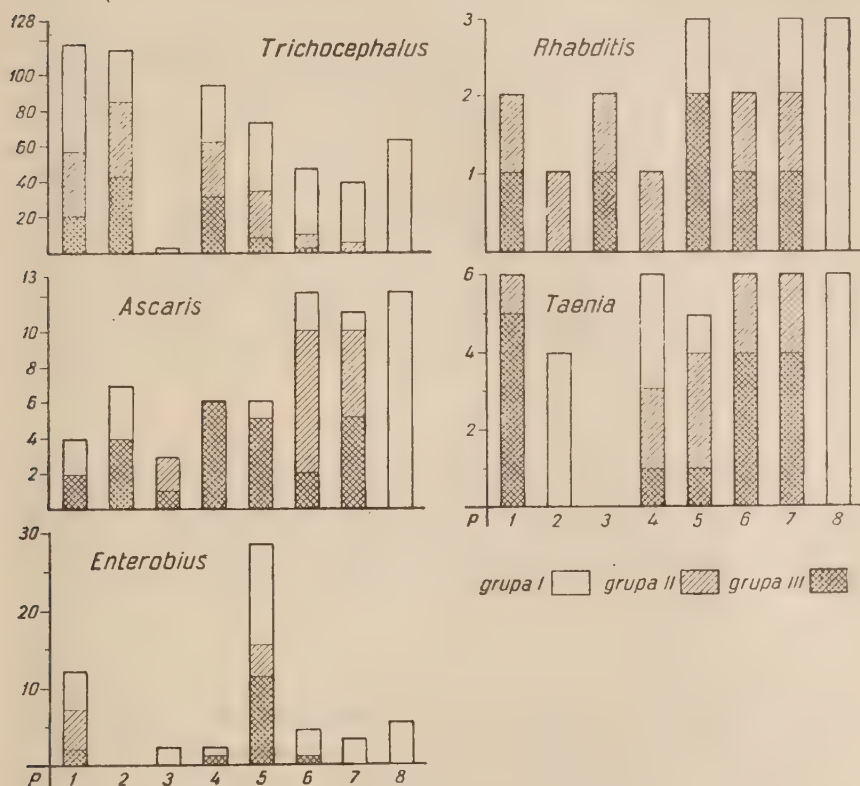
		Willis	Riva's	Rach-manowa	Bass-Füll.	Faust	Rozmaz hemat.	Rozmaz jodowy	Rozmazy łącznie	Istotna ilość zaraż.
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	Grupa I	38	29	1	32	38	36	34		
	II	15	41	—	31	26	7	5		
	III	3	43	—	31	8	2	—		
	Ogółem	56	113	1	94	72	45	39	62	128
<i>Ascaris lumbricoides</i>	I	2	3	—	—	1	2	1		
	II	—	—	2	—	—	8	5		
	III	2	4	1	6	5	2	5		
	Ogółem	4	7	3	6	6	12	11	12	13
<i>Enterobius vermicularis</i>	I	5	—	2	1	13	3	3		
	II	5	—	—	—	4	—	—		
	III	2	—	—	1	11	1	—		
	Ogółem	12	—	2	2	28	4	3	5	30
<i>Rhabditis</i> sp.	I	—	—	—	—	1	—	1		
	II	1	1	1	1	—	1	1		
	III	1	—	1	—	2	1	1		
	Ogółem	2	1	2	1	3	2	3	3	3
<i>Taenia saginata</i>	I	—	4	—	3	1	—	—		
	II	1	—	—	2	3	2	2		
	III	5	—	—	1	1	4	4		
	Ogółem	6	4	—	6	5	6	6	6	6

Metoda Willisa wykryła 1 przypadek *Trichocephalus* i 1 przypadek *Enterobius* pominięte innymi metodami.

Rhabditis sp. (jaja, larwy i postacie dojrzałe) występowały w kale w dużej ilości, stąd stwierdzano je prawie wszystkimi metodami.

Tasiemce

Taenia sp. Wszystkie metody dały wyniki jakościowo podobne (z wyjątkiem metody Rachmanowej). Największe zagęszczenie



Wykres 3. Ilość zarażeń wykrytych poszczególnymi metodami łącznie z metodą Willisa. P. — istotna ilość zarażeń, 1 — metoda Willisa, 2 — metoda Rivasa, 3 — metoda Rachmanowej, 4 — metoda Bass-Fülleborna, 5 — metoda Fausta, 6 — rozmaz bezpośredni barwiony hematoksyliną wg Lawlessa, 7 — rozmaz bezpośredni barwiony jodem, 8 — rozmazy bezpośrednie łącznie.

uzyskano stosując metodę Willisa oraz na rozmazach bezpośrednich.

Hymenolepis nana. Jedyny przypadek, wykryty przy pomocy metody Fausta (18 jaj pod całym szkielek nakrywkowym).

Pierwotniaki

Entamoeba histolytica i *E. coli*. Najlepszą metodą diagnostyczną i zagęszczającą okazała się metoda Fausta, przy pomocy której wykryliśmy 85% z ogółu przypadków.

Lamblia intestinalis. Ponieważ cysty występowały w kale przeważnie w dużej ilości, przydatność diagnostyczna poszczególnych metod była podobna. Największe jednak zagęszczenie cyst uzyskano przy metodzie Rivas a i Fausta.

Inne pierwotniaki (*Chilomastix mesnili*, *Jodamoeba bütschlii*). Cysty tych pierwotniaków, prawdopodobnie z uwagi na dłuższy okres przechowywania kału w chłodni, były wykryte tylko kilkakrotnie. Dobra dla celów rozpoznawczych okazała się metoda Rachmanowej. Cysty te kontrolowano również i na preparatach stałych barwionych hematoksyliną żelazistą Heidenhaina w modyfikacji Nöllera.

Stawonogi

Tyroglyphus sp. (jaja, larwy i postacie dojrzałe). Metoda Fausta okazała się bez porównania lepsza od innych, wykrywając 40 z 52 przypadków. Metody Rivas a, Bass-Fülleborn a i Wilisa wykryły po 5 przypadków, a rozmazy bezpośrednie —2.

Dyskusja

Metoda Rivas a wykrywając 73% ogółu zarażeń robakami, okazała się najczulsza w stosunku do *Trichocephalus* (88%), natomiast jaja innych robaków wykrywane były w znaczniejszym odsetku przy stosowaniu metody Bass-Fülleborn a lub Fausta, a nawet na rozmazie bezpośrednim. Niezadowolające wyniki metody Rivas a w rozpoznawaniu taeniasis i enterobiasis podnosi również Brown (1945), proponując dla tych celów jako lepszą metodę Fausta i rozmaz bezpośredni. Podkreślić natomiast trzeba, że poza rozmazem bezpośrednim metoda Rivas a, jako jedyna, okazała się względnie czuła na niezaplodnione jaja *Ascaris*.

Metodą Rivas a wykryto 64% cyst pierwotniaków (przede wszystkim *Entamoeba coli* i *Lamblia intestinalis*) tj. mniej niż przy stosowaniu metody Fausta, ale więcej niż przy metodzie Rachmanowej. Odsetek ten odpowiada w przybliżeniu ilości cyst

wykrytych łącznie na dwóch rozmazach — jodowym i hematoksylinowym. Cysty pierwotniaków, a szczególnie *Lamblija intestinalis* przy użyciu metody R i v a s a występowały na ogół w większym zagęszczeniu, niż przy metodzie F a u s t a. Podobną uwagę podaje B r o w n (145), ilustrując to w sposób następujący: o ile przyjmie się zagęszczenie cyst *Lamblija intestinalis* w rozmazie bezpośrednim za 1, to przy metodzie F a u s t a zagęszczenie to — 9, a przy metodzie R i v a s a = 25; podobne dane dla cyst *Entamoeba coli* przedstawiają się jak 1, 32, 80.

Należy również wspomnieć o zniekształcającym oddziaływaniu odczynników używanych w metodzie R i v a s a na cysty pierwotniaków. Zniekształcenia cyst *Entamoeba coli* i *Lamblija intestinalis* na ogół w postaci „zmarszczeń“ nie powodują trudności w rozpoznawaniu, natomiast cysty mniejsze wykazywały tak dalece zmienioną strukturę, że wręcz nie podobna było określić bliżej gatunku pasożyta.

Sączenie emulsji kałowej, stosowane w metodzie R i v a s a, wpływa wyraźnie niekorzystnie zarówno na zagęszczanie cyst jak i jaj. Z podobną opinią spotykamy się również i w literaturze, mianowicie, O t t o (1941) jest zdania, że sączenie pochłonia znaczną część jaj i cyst, a L a n e (wg W a t s o n a, 1947) uważa, że sączenie kału redukuje ilość jaj *Ancylostoma* nawet o 60%. Tylko F a u s t (1939) jest zdania, że sączenie może nie mieć wpływu na rzeczywisty obraz inwazji.

Mimo, że metoda R i v a s a daje na ogół preparaty bardzo czyste, niemniej należy pamiętać, że niewielki błąd techniczny, jak zbyt duża ilość pobranego kału, niedokładne roztarcie kału, niecałkowite usunięcie korka albo pominięcie oczyszczenia ścian próbówki zaraz po zlaniu całej zawartości aż po osad (resztki te szybko spływają na dno i zanieczyszczają osad), mogą w znacznym stopniu powodować zabrudzenie preparatu. Przypuszczamy, że zastosowanie do metody R i v a s a kału w postaci dobrze rozdrobnionej w wodzie zawiesiny (jak to poleca L o u g h l i n w swojej metodzie AEX) mogłoby wpływać korzystnie na czystość i przejrzystość preparatu.

Metoda R a c h m a n o w e j, stosowana dla wykrywania cyst *Lamblija intestinalis*, wykazywała również w $\frac{1}{3}$ ogółu przypadków jaja *Ascaris* i wyjątkowo jaja *Enterobius* i *Trichocephalus*.

Ilość ogólnie wykrytych zarażeń pierwotniakami przy pomocy tej metody była taka sama, jak przy użyciu tylko rozmazów barwionych hematoksyliną. Metoda ta, opisywana jako szczególnie dobra dla cyst

Lamblia intestinalis (m. in. Grott 1939 B), w naszych badaniach wykazała jedynie $\frac{2}{3}$ ogółu przypadków lambliasis, co odpowiada wynikom z metody Rivas a, podczas gdy metoda Fausta i roz-mazy bezpośrednie dają obraz inwazji bardziej wiarygodny. Na ko-rzyść metody Rachmanowej należy zapisać to, że nie znieksztalca cyst pierwotniaków.

Modyfikacja Grotta (1939) wprowadzająca w miejsce roztworu cukru roztwór siarczanu miedzi i chlorku sodu daje według niego wyniki podobne, a roztwór soli nieorganicznych jest bardziej trwały i dlatego praktyczniejszy w użyciu.

Metoda Bass-Fülleborna i metoda Willisa. Przy po-mocy pierwszej stwierdzono 70% zarażeń robakami. W porównaniu z metodą Rivas a wykryto mniej przypadków *Trichocephalus*, ale więcej *Taenia* i *Ascaris*. Zagęszczenie jaj, w szczególności zapłodnio-nych jaj *Ascaris*, było znaczne, niekiedy po kilkanaście w polu widzenia. Metoda ta dla wykrywania robaczyc okazała się o 9% lep-sza od uproszczonej metody Fausta.

Przy metodzie Bass-Fülleborna pojedyncze, silnie znieksztalczone cysty *Entamoeba coli* spostrzegano tylko wyjątkowo. Jest to zgodne z obserwacją wielu autorów, m. in. Fülleborna (1920), Fausta (1939) i Watsona (1947), którzy, w przeciwieństwie do Kofoida i Barbera (1918), uważają, że metody z nasyconym chlorkiem sodu nie nadają się do wykrywania cyst pierwotniaków. Kiedy do metody Bass-Fülleborna w miejsce kału użyliśmy osadu pozostałego po Rachmanowej, tj. oczyszczonego z czę-steczek o c. wł. poniżej 1,113, to otrzymane preparaty były znacznie czystsze. Niemniej, w trakcie badania w osadzie niektórych prób zauważyliśmy śluzowate, pasemkowate strąty z drobnymi resztkami pokarmowymi i jajami *Trichocephalus* i *Ascaris*.

Pod koniec badań wykonano 230 analiz metodą Willisa, w wy-niku których wykryliśmy, w porównaniu do Rivas a i Bass-Fülleborna, zaledwie połowę przypadków trichocephaliasis i ascariasis. Metoda ta okazała się jednak dobra dla wykrywania taeniasis. Oryginalna metoda Willisa, prawdopodobnie najprostsza z metod flotacyjnych, przez wielu autorów uważana jest za niedo-kładną i „brudną“ (Nitzulesco 1939 i in.).

Metoda Fausta wykazała 61% z ogólnej ilości zarażeń roba-kami i 83% — zarażeń pierwotniakami. Metoda ta, w porównaniu ze wszystkimi innymi i to zarówno sedymentacyjnymi jak i flota-cyjnymi, jest najbardziej czuła na jaja *Enterobius*. Mimo to w po-

równaniu z rozmazami N. I. H. wykrywa zaledwie 15% przypadków owsicy (wg Samitza, 1938 — 18%). Jaja *Taenia solium* i *T. saginata* wypływały nie zawsze (podobnie Rotbard, 1951) i w małym zagęszczeniu. Dew (1947) znajduje również więcej jaj *Taenia* na rozmazie, niż przy użyciu metody Fausta. Natomiast jedyny przypadek *Hymenolepis nana* został uchwycony tylko metodą Fausta.

Jaja *Ascaris*, przeważnie zapłodnione i w dużym zagęszczeniu, po kilkadziesiąt w polu widzenia, wykryło zaledwie w 50% przypadków. Jaja *Trichocephalus*, na ogół pojedyncze, wykryto w 57% przypadków. Bijlmer (1948) podaje, że oryginalna metoda Fausta wykrywa trichocephaliasis zaledwie w $\frac{1}{3}$. To wszystko świadczy o tym, że ciężar właściwy 33,1% roztworu siarczanu cynku, wynoszący zaledwie 1,180, jest zbyt niski, aby mógł dźwignąć ku powierzchni ciężkie jaja robaków. Stawia to pod znakiem zapytania uniwersalność metody Fausta, jaką przypisują jej Belding (1942) Craig i Faust (1945).

Jeśli jednak chodzi o cysty pierwotniaków, to metoda Fausta okazała się lepsza od wszystkich innych przez nas stosowanych. Faust (1939) podaje, że oryginalna metoda wykrywa 69% przypadków amoebiasis, a Tobie (1951) wartość tę podwyższa do 71% przy badaniu 1-krotnym, i do 100% przy badaniu 5-krotnym. Ritchie (1952) osiągnął wyniki jeszcze o 11—35% lepsze przy użyciu metody MGL.

W pracy naszej metodą Fausta wykryliśmy $\frac{5}{6}$ z ogólnej ilości przypadków *Entamoeba histolytica* i $\frac{4}{5}$ zakażeń *Entamoeba coli* i *Lambliia intestinalis*.

Materiał do mikroskopowania pobiera się albo eżą, albo szkiełkiem nakrywkowym, które można umieszczać na probówce jeszcze przed wirowaniem. Pobieranie materiału szkiełkiem nakrywkowym po wirowaniu wydaje się sposobem najwygodniejszym, szczególnie przy badaniach masowych.

Rozmazy bezpośrednie. Pojedynczy rozmaz bezpośredni wykrywał 40—43% zarażeń robakami i 49—64% — pierwotniakami. Przy dwóch rozmazach odsetek ten wzrósł do 54% w stosunku do robaków i prawie do 70% w stosunku do pierwotniaków. W naszych badaniach rozmazy bezpośrednie okazały się lepsze od wszystkich innych metod dla rozpoznawania jaj *Ascaris* (szczególnie niezapłodnionych), oraz jaj *Taenia*. Jedynie inwazje *Trichocephalus* jeden rozmaz wykazywał w $\frac{2}{5}$, a dwa rozmazy nieco więcej niż w polowie przypadków.

Z pierwotniaków rozmazem wykrywaliśmy przede wszystkim cysty *Entamoeba coli* i *Lambliia intestinalis*.

Trzeba tu zaznaczyć, że jakość preparatu uzależniona jest od sposobu jego zabarwienia. Na rozmazie jodowym cysty, jaja i resztki pokarmowe wybarwiają się na kolor żółtobrazowy i różnią się między sobą tylko odcieniem. Przy zastosowaniu hematoksyliny wg Lawlessa jaja robaków zarysowują się na szaroczarnym tle o wiele wyraźniej, a cysty pierwotniaków znacznie silniej załamują światło. Dokładne rozpoznanie cyst na rozmazie z hematoksyliną nie zawsze jest jednak możliwe i wówczas preparat należy wtórnie podbarwiać jodem.

Ocena wartości rozmazów bezpośrednich przez różnych autorów jest niejednolita. Coudert (1949) uważa, że dla stwierdzenia takich robaczyc jak ascariasis, ancylostomiasis, trichocephaliasis i hymenolepidosis rozmaz nie wystarcza, z czym nie godzi się Chandler (1951).

Według Fausta (1939) rozmazy bezpośrednie wykrywają 45% inwazji pierwotniakami i około 10% — robakami. Dew (1947) uzależnia wyniki od gatunku pasożyta i podaje dla pierwotniaków 16—54%, a dla robaków 18—77%. Tobie (1951) wykrywał rozmazem pierwotniaki w 27—39%, a Bonilla-Naar (1948) rozpoznawał robaczycę tą metodą w 50—70%.

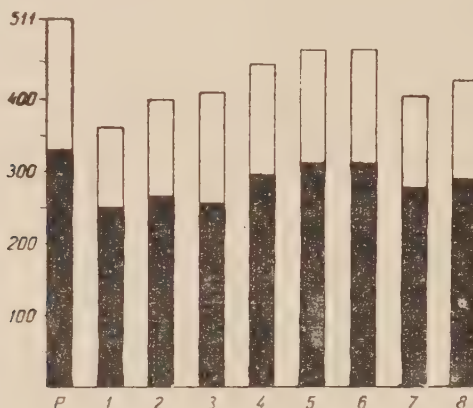
Naszym zdaniem, rozmaz bezpośredni obarcza preparat mikroskopowy tym balastem, którego pozbyć się można przez zwykłe, wodne dekantowanie kału. Metoda dekantacji jest ponadto metodą w pewnym stopniu zagęszczającą cysty i jaja pasożytów, co w sumie wpływać musi korzystnie na przejrzystość preparatu i tym samym na ilość wykrywanych w nim pasożytów. W naszej pracy, wobec jednoczesnego stosowania kilku dość skomplikowanych metod koncentracyjnych, zrezygnowaliśmy z metody dekantacji, jako wymagającej więcej czasu niż bezpośredni rozmaz.

W celu wybrania najlepszego zestawu 2—3 metod, obliczyliśmy wyniki otrzymywane przy zastosowaniu różnych kombinacji (patrz tabela VII). Pozycje 1—4 obejmują po 2 metody; jak wynika z tabeli, trzy pierwsze zestawy (kombinacje metody koncentracyjnej z rozmazem bezpośrednim) dają wyniki podobne, przy czym we wszystkich trzech stwierdzamy znaczny odsetek wykrytych inwazji *Ascaris*. Następna kombinacja (pozycja 4), polegająca na połączeniu 2 metod koncentracyjnych, daje wyniki, oprócz ascariasis, znacznie lepsze. Gorsze wyniki odnośnie wykrytych *Ascaris* przypi-

TABELA VII
Zestawienie wyników z różnych kombinacji metod

	Bass- Füll. + Rozmaz hemat.	Rivas + Rozmaz hemat.	Faust + Rozmaz hemat.	Rivas + Faust	Rivas + Faust + Rozmaz hemat.	Rivas + Faust + Rozmaz hemat. + Rozmaz jodowy	Rivas + Rach- manowa + Bass- Füll. + Rozmaz jodowy	Rivas + Rach- manowa + Bass- Füll.	Istotna ilość zarażeń
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Trichocephalus trichiurus</i>	207	225	188	233	234	234	240	240	249
<i>Ascaris lumbricoides</i>	38	37	37	27	39	40	32	38	42
<i>Enterobius vermicularis</i>	6	4	35	35	35	35	5	7	38
<i>Rhabditis</i> sp.	2	2	3	3	3	3	2	3	3
<i>Taenia saginata</i>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Hymenolepis nana</i>	—	—	1	1	1	1	—	—	1
Ogółem robaki o/o	259 76	274 81	270 80	305 90	318 94	319 94	285 84	294 87	339 100
<i>Entamoeba coli</i>	83	106	116	122	125	126	101	107	132
<i>Entamoeba histolytica</i>	2	3	5	5	5	5	4	5	6
<i>Labdia intestinalis</i>	24	26	29	29	30	30	23	27	30
<i>Protozoa varia</i>	—	—	1	1	1	2	3	4	4
Ogółem pierwotniaki o/o	109 63	135 78	151 88	157 91	161 94	163 95	131 76	143 83	172 100
Łącznie robaki + pierwotniaki o/o	368 72	409 80	421 82	462 90	479 94	482 94	416 81	437 86	511 100

sać należy brakowi w tym zestawie rozmazu bezpośredniego, który okazał się najczulszą metodą dla wykrywania jaj *Ascaris*. Uzupełnienie tych 2 metod rozmazem bezpośrednim, barwionym hematoksyliną stworzyło taką kombinację (pozycja 5), dzięki której ilość stwierdzonych inwazji pierwotniakami i robakami wzrosła do 94⁰%. Dodanie do tej kombinacji rozmazu jodowego zwiększa ilość stwierdzanych przypadków tylko minimalnie.



Wykres 4. Wyniki z różnych kombinacji metod. P — istotna ilość zarażeń, 1 — metoda Bass-Fülleborna + rozmaz bezpośredni barwiony hematoksyliną, 2 — metoda Rivas + rozmaz bezpośredni barwiony hematoksyliną, 3 — metoda Fausta + rozmaz bezpośredni hematoksylinowy, 4 — metoda Rivas + metoda Fausta, 5 — metoda Rivas + metoda Fausta + rozmaz bezpośredni hematoksylinowy, 6 — metoda Rivas + metoda Fausta + rozmaz bezpośredni hematoksylinowy + rozmaz bezpośredni barwiony jodem, 7 — metoda Rivas + metoda Rachmanowej + metoda Bass-Fülleborna, 8 — metoda Rivas + metoda Bass-Fülleborna + rozmaz bezpośredni jodowy. Kolor czarny dotyczy robaków, kolor biały pierwotniaków.

Stosowana na początku naszej pracy kombinacja 3 metod koncentracyjnych (pozycja 7) okazuje się niewystarczająca, a dodanie rozmazu bezpośredniego (pozycja 8) daje wyniki słabsze niż wspomniana kombinacja — R i v a s, F a u s t, rozmaz z hematoksyliną, którą to na podstawie naszych wyników oceniliśmy jako najlepszą. Gdybyśmy natomiast w miejsce rozmazu bezpośredniego zastosowali metodę dekantacji, to należałoby oczekiwać jeszcze lepszych rezultatów.

W zakończeniu podajemy, że czas wykonywania każdej analizy przy użyciu jednej z 7 metod jest podobny. Dłuższemu bowiem przygotowywaniu preparatu towarzyszy jego stosunkowo krótsze przeglądanie i odwrotnie. Odczynniki potrzebne do metody R i v a s a i F a u s t a są najdroższe, koszt ich wynosi 2 razy tyle, co odczynników do metody R a c h m a n o w e j, a 30 razy tyle co do metody B a s s - F ü l l e b o r n a i rozmazów bezpośrednich.

Adres autorów:

Zakład Biologii Akademii Medycznej
Poznań, ul. Fredry 10

LITERATURA

1. Baroody B. J., The relative efficiency of water centrifugal sedimentation and other methods of stool examination for diagnosis of *Schistosoma japonica*. J. Lab. Clin. Med. 31, 815—823, 1946 (A).
2. Baroody B. J., Modification of the Faust method in the detection of cysts and ova. J. Lab. Clin. Med. 31, 1372—1374, 1946 (B).
- 3.* Bass C. C., Mild uncinariasis infection. Arch. Intern. Med. 3, 446—450, 1909.
4. Beaver P. C., The standardization of fecal smears for estimating egg production and worm burden. J. of Parasitol. 36, 451—546, 1950.
5. Beaver P. C., The detection and identification of some common nematode parasites of man. Amer. J. Clin. Path. 22, 481—494, 1952.
- 6.* Biełozierowa O. M., Litunowskaja M. N., (Faecal examination for helminth ova with sodium nitrate). Med. Parasitol. i Parasitar. Bolezni 13, 32—36, 1944.
7. Bijlmer J., On the recovery of protozoa and eggs of some species of helminths in human faeces. J. of Parasitol. 34, 101—107, 1948.
8. Bonilla - Naar A., Gomez - Vargas M., AEX and „Faust Simplificado“ (Bonilla-Naar) two new methods for investigating intestinal parasitism. J. of Parasitol. 34, Suppl. 32, 1948.
9. Brown R. L., Comparative studies on enterozoic parasite ova and cysts concentrating procedures. Amer. J. Trop. Med. 25, 375—376, 1945.
10. Chandler A. C., Modern methods for making fecal examinations for helminthic infections. Amer. J. Med. Technol. 17, 64—68, 1951.
11. Coudert J., Juttin P., A propos des méthodes d'enrichissement des selles. Bull. Soc. Path. Exot. 42, 111—114, 1949.
12. Dew R. E., Zinc sulphate flotation of faeces. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Lond. 41, 213—216, 1947.
13. Faust E. C., Sawitz W., Tobie J., Odom V., Peres Ch., Lincicome D. R., Comparative efficiency of various technic for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. J. of Parasitol. 25, 241—262, 1939.
14. Fülleborn F., Die Anreicherungen der Helmintheneier mit Kochsalzlösung. Dtsch. Med. Wschr. 46, 714—715, 1920.
15. Fülleborn F., Zur Hamburger „Deckglasauszählung“ für Hakenwurmeier. Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. 31, 232—236, 1927.
16. Goldman M., A single solution iron-hematoxylin stain for intestinal protozoa. Stain Technol. 24, 57—60, 1949.

* Prace oznaczone gwiazdką znane są nam tylko ze streszczeń.

17. Goldman M., Deep-freeze Preservation of Stool Specimens Containing Intestinal Parasites. *J. of Parasitol.* 36, 88, 1950.
18. Grott J. W., Badanie torbieli wielkoustca jelitowego (Lamblii) w kale metodą H. Rachmanowej w modyfikacji własnej. *Pol. Gaz. Lek.* 1939 (A).
19. Grott J. W., O potrzebie badania kału na obecność torbieli Lamblii oraz o wartości metody Rachmanowej w tym względzie. *Now. Lek.* 1939 (B).
20. Grott J. W., Nowa własna metoda badania cyst Lamblii w kale. *Pol. Tyg. Lek.* 1, 753—756, 1946.
21. Günzberg, (Eine neue Methode der Untersuchung auf Bandwurmeier). *Farmaceutičeskij Žurnal* nr 40. *Ref. wg Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* 1912, 16, 604.
22. Hakansson E. G., A Method of Destroying the Blastocysts (*Blastocystis hominis*) in Fecal Wet Smears in Order to Facilitate the Examination for *Endamoeba histolytica*. *J. Lab. Clin. Med.* 25, 546—547, 1940.
23. Hung S. L., Über den Nachweis von Hakenwurmeiern im Kote, den Wert ihrer quantitativen Bestimmung und eine einfache neue Methode für letztere. *Arch. Schiffs- u. Tropenhyg.* 30, 399—421, 1926.
24. Hunter III G. W., Ritchie L. S., Patterson K., Muni L. L., A comparison of Triton-NE with QM laundry detergent as suggested for the AMS III technique. *Military Surgeon* 108, 424—426.
25. Janicki M., Konopacka B., Dymowska Z., Robaki i pierwotniaki przewodu pokarmowego ludności miasta Warszawy w latach 1940—1943. *Med. Dośw. i Mikrobiologia* 2, 586—598, 1950.
26. Jirovec O., Havlik O., Zajímavější parasitologické nálezky v letech 1946—1949. *Praktický Lékař* 30, 296—297, 1950.
- 27.* Kalantarian E. W., (Utilisation du nitrate de sodium dans la pratique helminthologique). *Med. Parasitol. i Parasitarn. Bolezni* 7, 142—143, 1938.
28. Kofoed C. A., Barber M. A., Rapid method for detection of ova of intestinal parasites in human stools. *J. Amer. Med. Assn.* 71, 1557—1561, 1918.
29. Kohn J., A rapid laboratory method for the diagnosis of intestinal protozoa in faeces. *J. Trop. Med. Hyg.* 53, 212—214, 1950.
30. Kolmer J. A., Boener F., *Approved Laboratory Technic*, New York — London, 1945.
31. Kortenhaus F., Verbesselter Nachweis von Wurmeiern im aufgehellten dicken Trockenausstrich. *Münch. Med. Wschr.* 1029, 1928.
32. Kozar Z., Badania nad robakami pasożytniczymi w Gdańsku. I Metody badania kału oraz częstość występowania robaków pasożytniczych w porównaniu z innymi państwami Europy. *Przegl. Epidem.* 2, 186—202, 1948.
- 33.* Lepes T., O nekim metodam za dokazivanje jajesca helminata iz fecesa. *Vo(jno) Sanit. Pregl. (Belgrad)* 175—177, 1952.
34. Lipiński W., Badania nad wpływem pasożytów przewodu pokarmowego na ustrój ludzki oraz nowe drogi zwalczania choroby robaczej. *Pol. Gaz. Lek.* 25, 449—457, 1928.
35. Loughlin E. H., Stoll N. R., An efficient concentration method (AEX) for detecting helminthic ova in feces (Modification of the Telemann technic). *Amer. J. Trop. Med.* 26, 517—527, 1946.

36. Loughlin E. H., Diagnosis of helminthiasis. J. Amer. Med. Assn. 139, 997—1000, 1949.
37. Miyagawa Y., Beziehungen zwischen Schistosomiasis japonica und der Dermatitis unter Berücksichtigung der Methode der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces und Beiträge zur Kenntnis der Schistosomum-Infektion. Zbl. Bakter. I. Orig. 69, 132—142, 1913.
38. Niepielski A., Zaprawianie preparatów kałowych kwasem azotowym w celu ułatwienia poszukiwania jaj pasożytów jelitowych. Przegl. Lek. 58, 26, 1919.
39. Nitzulesco V., Manoilescu C., Popovici R., Sur la recherche des oeufs d'helminthes par la méthode de Willis-Hung. Bull. Acad. Med. de Roumanie 7, 86—99, 1939.
40. Otto G. F., Hewitt R., Strahan D. E., A simplified zinc sulfate levitation method of examination for protozoan cysts and hookworm eggs. Amer. J. Hyg. 33, 32—37, 1941.
- 41.*Parietskaja M. S., (Diagnostic des invasions par les helminthes par la méthode de l'analyse quantitative). Med. Parasitol. i Parazitarn. Bolezni 9, 453—457, 1940.
42. Pochopień F., Pasożyty jelitowe pospolite u dzieci jako czynnik chorobowy i toksyczny. Przegl. Lek. 1, 383—391, 1946.
43. Priedtietzienskij W. E., Borowskaja W. M., Margolina Ł. T., Rukowodstwo po laboratornym metodom issledowanija. Miedgiz. Moskwa, 1950.
44. Rachmanow H., Die Bestimmung des spezifischen Gewichts der Zysten von *Lambia intestinalis* (*Giardia intestinalis*). Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. 40, 395—396, 1936.
45. Rankl W., Nachweis von Wurmeiern im Fluoreszenzmikroskop. Zbl. Bakter. 152, 152—154, 1947.
46. Reichenow E., Vogel H., Weyer F., Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustiere. Barth Verl. Leipzig, 1952.
47. Ritchie L. S., Pan C., Hunter G. W. III, A comparison of the zinc sulphate and the MGL (Formalin-Ether) technics. J. of Parasitol. 38, Suppl. 16, 1952.
48. Rivas D., An efficient and rapid method of concentration for the detection of ova and cysts of intestinal parasites. Amer. J. Trop. Med. 8, 63—72, 1928.
49. Robin L. A., Perfectionnement apporté à une méthode d'enrichissement des selles. Bull. Soc. Path. Exot. 25, 700—702, 1933.
50. Rotbard N., Anreicherungsmethode von Zysten und Wurmeiern nach Faust. Wien. Zschr. Inn. Med. 32, 72—73, 1951.
51. Saperio J. J., Lawless D. K., Strome C. P. A., An improved iodine-staining technique for routine laboratory diagnosis in intestinal protozoa. Science 114, 550—551, 1951.
52. Sawitz W., Odom V., Lincicome D. R., Comparative efficiency of the NIH anal swab examination and stool examination by brine and zinc sulphate flotation for *Enterobius* infection. J. of Parasitol. 24, Suppl. 9, 1938.

53. Skrjabin K. I., *Stroitelstwo sowietskoj gielmintologii*. Izw. Akad. Nauk SSSR. Moskwa-Leningrad, 1946.
54. Stefański W., Żarnowski E., Sołtys A., *Zarys parazytologicznych metod rozpoznawczych*, Warszawa. Wyd. 3, 1952.
55. Stitt E. R., Clough P. W., Branham S. E., *Practical Bacteriology, Hematology and Parasitology*, 1948.
56. Summers W. A., A modification of zinc sulfate centrifugal flotation method for recovery of helminth ova in formalinized feces. *J. of Parasitol.* 28. 345—346, 1942.
57. Swancara A. L., A new iodine preparation for staining of parasitic ova and cysts. *Amer. J. Med. Technol.* 16, 193—194, 1950.
58. Telemann W., Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces, 1908. *Dtsch. Med. Wschr.* 34. 1510—1511.
59. Tobie J. E., Reardon L. V., Bozicevich J., Bao-Chin Shih, Mantel N., Thomas E. H., The efficiency of the zinc sulphate technique in the detection of intestinal protozoa by successive stool examinations. *Amer. J. Trop. Med.* 31, 552—560, 1951.
60. Wasilkowa Z. G., *Osnownyje gielmintozy czieżowieka i borba s nimi*. Miedgiz-Moskwa, 1953.
61. Watson J. M., A modification of the zinc sulphate centrifugal flotation technique for the concentration of helminth ova and protozoan cysts in faeces. *Ann. Trop. Med. & Parasitol.* 41., 43—45, 1947.
62. Wittenberg J., *Nowoczesne metody wykrywania jaj robaków pasożytniczych w kale*. *Warsz. Czasop. Lek.* 181—183 i 214—216, 1925.

РЕЗЮМЕ

1. Исследовано 500 проб экскрементов по методу Риваса, Рахмановой, Басс-Фюллеборна, а следующих 500 проб — по методу Риваса, Рахмановой, Басс-Фюллеборна, Фауста и при помощи непосредственных размазов, крашенных гематоксилином или иодом. Кроме того исследовано еще добавочно 230 проб экскрементов по методу Виллиса.

2. Самые лучшие результаты в обнаружении яиц червей получено применяя метод Риваса и Басс-Фюллеборна. Яйца *Ascaris* обнаруживались чаще всего на непосредственных размазах. Для цист простейших наиболее подходящим методом является метод Фауста.

3. Комбинация трех методов: Ривас — Фауст — непосредственный размаз крашенный гематоксилином по Лоулессу, гарантирует получение наилучших результатов при обнаруживании как яиц червей так и цист простейших (94%).

SUMMARY

500 samples of faeces were examined using methods of Rivas, Rachmanova, Bass-Fülleborn and further 500 using methods of Rivas, Rachmanova, Bass-Fülleborn, Faust and direct smear stained with haematoxylin or iodine. Besides 230 samples were additionally examined using the method of Willis.

2. The best results in detection of worm eggs were obtained with methods of Rivas and Bass-Fülleborn. The eggs of *Ascaris* were most often discovered in the direct smears. For the cysts of *Protozoa* the best proved to be the Faust method.

3. The combination of three methods: Rivas's — Faust's — direct smear stained with haematoxylin after Lawless, assures the best results in detection both worm-eggs and cysts of *Protozoa* (94%).

